

**Dr. Katerina Komrskova (Dvorakova-Hortova), Ph.D.**

Head of the Group of Reproductive Biology

Institute of Biotechnology of the Czech Academy of Sciences

BIOCEV

Prumyslova 595, 252 50 Vestec, Czech Republic

Phone: 00420 325873799

Email: [katerina.komrskova@ibt.cas.cz](mailto:katerina.komrskova@ibt.cas.cz)

<http://www.ibt.cas.cz>

Posudek školitelky na diplomovou práci

Řešitel: Kryštof Bašus

Název: Monitoring of protein network dynamics: the role of FcRL proteins during sperm-egg membrane interaction.

(Monitorování dynamiky proteinových sítí: role FcRL proteinů při interakci membrány spermie a vajíčka)

Charakterizace molekulárních mechanismů zásadních pro interakci membrán spermie a vajíčka včetně jejich vazby a fúze je výzvou novodobé reprodukční biologie, jejíž výstupy mají zásadní přesah do asistované reprodukce, veterinární praxe i humánního lékařství. Doposud byla prokázána nezastupitelnost určitých proteinů, účastnících se primární vazby a fúze spermie s vajíčkem (Izumo1, CD9, Juno) a u dalších (CD46, tetraspaniny) byly objeveny funkce zcela nové, pro reprodukční proces však nezbytné. I přes veškerou snahu však dosud nebyl nalezen receptor vajíčka k primárnímu vazebnému proteinu spermie Izumo1.

Cíle DP: Tato diplomová práce si kladla za cíl charakterizovat nový kandidátní fyziologický ligand Fc receptor-like 3 (FcRL3) vajíčka, jeho vztah k receptorům JUNO a CD9, a k fúznímu proteinu spermie IZUMO1 u člověka. Současně porovnat výstupy u člověka s myším *fcrl5*<sup>-/-</sup> modelem. Součástí diplomového projektu bylo získat vhled do aktivní dynamiky proteinových interakčních a strukturních sítí, které se účastní procesu fúze pohlavních buněk.

Kryštof si v průběhu řešení této práce osvojil širokou škálu metodik, od práce s tkáňovými kulturami a jejich transfekcí, přes delikátní práci s gametami, a aplikaci metodik fluorescence a jejich interpretace, včetně kolokalizace a PLA (proximity ligation assay), rovněž si osvojil např. *in vitro* oplození avšak i standardní genotypizaci či western blot aj. Měl příležitost pracovat jak s modelem myši, tak delikátním materiálem vajíček člověka. V rámci této práce mu byla poskytnuta možnost se naučit statistickému zpracování dat a jejich interpretace. Rovněž byl součástí *in vivo* studie definice fertilizační potenciálu na *fcrl5* deficientní myši. V průběhu vypracování své DP se rovněž stal aktivním členem týmu celého projektu, na němž byl i zaměstnán.

Kryštof projevil aktivní přístup a velice dobrou organizační schopnost práce v laboratoři. Z pohledu školitelky byl spolehlivý. Pravděpodobně mohl být více proaktivní ve zpracování svojí DP a mnohé

prezentace výsledků šly uchopit podrobněji a precizněji. Nicméně celkové zhodnocení a kritický přístup ponechám na oponentovi.

Kryštofovi se podařilo přispět k objasnění role proteinu FcRL3 během interakce membrán gamet při oplození člověka. FcRL3 má veškeré atributy být jedním z klíčových membránových fúzních receptorů vajíčka jakož to součást interakčních sítí JUNO, CD9 případně dalších tetraspaninů. Zcela zásadně tuto hypotézu podporuje fakt, že FcRL3 rovněž prokazuje pozitivní interakci s fúzním receptorem spermie IZUMO1, nicméně v současné době je ještě třeba dokončení započatých rozsáhlých experimentů. Splnutí gamet je již z vlastní podstaty druhově specifické avšak i mezidruhově konzervativní. Hlubšího pochopení nám mohou poskytnout deficientní modely a Kryštof přispěl k bližší charakterizaci myšího *fcrl5*<sup>-/-</sup>.

Na závěr hodnotím diplomovou práci Kryštofa Bašuse pozitivně a doporučuji ji k obhajobě.

V Praze, 8.9.2020

Kateřina Komrsková

